

Aus dem Institut für Anatomie der Freien Universität Berlin
(Leiter: Professor Dr. med. H.-J. Merker)

**ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNGEN DES
ZENTRALTEILS VOM GLASKÖRPER
DES KATZENAUGES**

Dissertation

zur

**Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin**

vorgelegt von

**Zahnarzt Winfried Kurschel
aus Dähre**

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548402_0064

Aus dem Institut für Anatomie der Freien Universität Berlin
(Leiter: Professor Dr. med. H.-J. Merker)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN DES ZENTRALTEILS
VOM GLASKÖRPER DES KATZENAugES

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnarzt Winfried Kurschel

aus Dähre

Referent: Prof. Dr. med. Willy Schwarz
Korreferent: Prof. Dr. med. dent. Hans Lenz

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Zahn-, Mund-
und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 23.11.1978

Meinen Eltern und meiner Ehefrau

gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

A.	Einleitung	Seite 4
B.	Material und Methode	17
	Befunde	18
C.	Diskussion	29
D.	Zusammenfassung	36
E.	Literaturverzeichnis	37

A.1. Darstellung der konträren Auffassungen über den Glaskörperaufbau in einem historischen Rückblick.

Die Diskussionen zwischen den unterschiedlichen Auffassungen über den anatomisch-morphologischen Aufbau des Glaskörpers (Corpus vitreum) reichen bis in die 50iger Jahre dieses Jahrhunderts. Bis zu dieser Zeit standen sich zwei Anschauungen diametral gegenüber. Die eine Seite ging von einer geformten, faserigen Stützeinrichtung aus, während die andere den Glaskörper als eine strukturlose Gallerte betrachtete, d.h. diese Wissenschaftler hielten an der ablehnenden Haltung R. Virchows (1852 - 1853) fest. Zu den Forschern, die diesen negierenden Standpunkt vertraten zählen: Henle (1866), Lieberkühn (1872), Schwalbe (1874 - 1887), Beauregard (1880), Bertechini (1901), Baurmann (1923 - 1926) u.a. . Sie begründeten ihre Haltung damit, daß der frische Glaskörper unter dem Lichtmikroskop keine geformten Bestandteile faseriger oder faserig-häutiger Art erkennen ließ und sahen alle geformten Strukturen, die im fixierten, d.h. mit chemischen Mitteln (Säuren) behandelten Präparat unter dem Mikroskop sichtbar wurden, als Fällungs- und Entmischungserzeugnisse an. Zwar wurde der Glaskörper-rinde von Schwalbe wie auch von Iwanoff (1865 - 1872) und Stilling (1869) eine konzentrische Schichtung

zugeschrieben, jedoch betonte er ausdrücklich, daß es sich hierbei um schalig angeordnete Lagen von Glaskörpergallerte handelt, die durch flüssigkeitsgefüllte Spalten voneinander getrennt sind. Baurmann (1923) zog zur Begründung seiner Theorie über den Glaskörperaufbau die Erfahrungen der Kolloidchemie sowie die aktuellen Ergebnisse von Fällungsversuchen mit Gallerten heran. Bei diesen Versuchen (vornehmlich mit Seifengelen) entstanden mikroskopische Bilder, die denen des fixierten Gelkörpers stark ähnelten. Weiterhin hielt er den Gegensatz zwischen der Menge der Fasern im fixierten Präparat und der Menge des festen Rückstandes, der beim Auspressen des Corpus vitreum übrigbleibt, für so gravierend, daß er die Präexistenz von Fasern ausschloß. Darüber hinaus würde ein Glaskörper, der aus Flüssigkeit und einem mikroskopischen Fasergerüst besteht, ein optisch schlechtes Medium darstellen. Diese Ergebnisse wissenschaftlicher Untersuchungen veranlaßten ihn zu folgender Definition des Glaskörpers:

" Der Glaskörper ist makro- und mikroskopisch eine homogene, kernlose Gallerte mit ultramikroskopischer Gelstruktur; er ist kein Gewebe, sondern ein Zellprodukt, welches an ein Zellsekret erinnert. Die Flüssigkeit wird darin durch molekulare Anziehung gebunden. "

Eine Reihe von Forschern schloß sich der Theorie

Baurmann`s an, die eine Anatomie des Corpus vitreum ablehnt, wie z.B. Greff (1928), Duke - Elder (1930), Strömberg (1931), Leplat (1932). In neuerer Zeit bestritten, auf Grund von phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen am lebensfrischen Glaskörper, Rossi (1953 - 1955), Cattaneo (1940) und Bruni (1943) die Existenz von fibrillären Elementen im Corpus vitreum in vivo. Nach ihrer Auffassung tritt eine Faserbildung erst 10 - 30 Minuten post mortem auf. Den Vertretern, die sich für den reinen Gelcharakter des Glaskörpers einsetzten, steht eine große Anzahl von Verfechtern gegenüber, welche einer geformten (faserigen) Stützeinrichtung des Corpus vitreum den Vorzug geben. Schon in der Mitte des 18. Jahrhunderts nahmen Demours (1741) und Zinn (1753) einen zelligen, d. h. kammerigen oder wabigen Bau mit unsichtbaren Scheidewänden an. Pappenheim (1842) trat als erster für eine konzentrische Anordnung feinsten Häutchen ein, und wird durch Hannover (1845), der nach Chromsäurebehandlung des Glaskörpers radiale Membranen und einen zwiebelartigen Aufbau erkannte, bestätigt. Erstmals wurde 1853 von Finkenbeiner der Ansicht Ausdruck verliehen, daß diese konzentrischen Membranen aus feinen Fasern zusammengesetzt sind. Unterstützung erhielt Finkenbeiner für seine Meinung durch C.O. Weber (1860) und Blix (1868), die im Glaskörper ein Netzwerk aus feinen, sich vielfach kreuzenden und untereinander ver-

bundenen Fasern sahen, dessen Knotenpunkte sie als Zellen oder Kerne auffaßten, sowie von Ciaccio (1870), Retzius (1894), Lenhossek (1903), Studnicka (1913), Erggelet (1914), Szent - Györgyi (1917), Koby (1920), DeJahn (1923), Heesch (1927) u.a.m. .

Seit Baurmann und Thiessen (1922) erstmalig auch im frischen Glaskörper feine Faserwerke mit dem Ultramikroskop feststellen konnten, hat sich die Auffassung über eine geformte, faserige Morphologie des Corpus vitreum bei den Mammalia heutzutage weitestgehend durchgesetzt, zumal Schwarz und Schuchardt (1950) Elemente gleicher Größenordnung auch im Phasenkontrast und im allseitigen Dunkelfeld zur Darstellung bringen und damit einen faserigen Aufbau nachweisen konnten. Die im Phasenkontrastmikroskop sichtbaren Strukturen differieren untereinander je nach ihrer Lage im Glaskörper, (Pars centralis, Pars corticalis, Pars postlenticularis) Grignolo (1953, 1954). Brembridge et al. (1952). Ihre Stärke ist im Gegensatz zur Länge, die von Baurmann und Thiessen mit 38 μ , Duke - Elder (1930) 30 μ , Stromberg (1932) 50 μ , angegeben wird, nicht bestimmbar. Der interfibrilläre Abstand wird mit 2,1 μ Baurmann und Thiessen oder 3,0 μ Schwarz gemessen.

Robertson und Duke - Elder (1933) beschrieben den Glaskörper als ein Gel, welches aus einem Netz von

Fibrillen zusammengesetzt und in einer viskösen Flüssigkeit aufgehängt ist. Diese Fasern, die nach dem Abtropfen der Glaskörperflüssigkeit zurückbleiben, wurden zuerst von Young und Mörner als " Residual Protein " bezeichnet.

Chemische und physikochemische Analysen bestätigten diese Bestimmung (Pirie, Schmidt Waters 1948, Neckel 1953, Gross, Matoltsy, Cohen 1955). Die oben erörterten Strukturen stellen das unlösliche Protein des Corpus vitreum dar. Um ihre Spezifität gegenüber dem Kollagen des Bindegewebes (Periode $640 \text{ \AA}$) hervorzuheben, bezeichnete Matoltsy (1951) diese fädigen Elemente als " Vitrosinfibrillen " . (Periode $610 \text{ \AA}$), die in die Klasse der Kollagene einzureihen sind.

A. 2. Die Glaskörperstrukturen im elektronenmikroskopischen Bild.

Mit der Entwicklung des Elektronenmikroskopes eröffnete sich die Möglichkeit auch die Räume zu erforschen, die zwischen den Fibrillen liegen (interfibrillar space). Nahezu gleichzeitig wurden unabhängig voneinander von Schwarz (1951) und Matoltsy und Mitarbeiter (1951) Arbeiten über die Glaskörperstrukturen des Rinderauges veröffentlicht. Matoltsy, Gross und Grignolo fanden im elektronenmikroskopischen Bild drei Fibrillenarten von

unterschiedlichem Durchmesser:

1. Zahlenmäßig am geringsten $\varnothing$ 500 - 800 Å
axiale Periodizität von 640 Å;
2. $\varnothing$ 250 Å mit angedeuteter Periode;
3. $\varnothing$ 150 - 200 Å mit charakteristischer Periode
von 610 Å.

Schwarz veröffentlichte erstmals eine umfassende Einteilung und Charakterisierung der fädigen Strukturen sowie ihrer räumlichen Anordnung im Corpus vitreum bis in den elektronenoptischen Bereich hinein. 1961 gab er für die Fibrillen des menschlichen Glaskörpers eine Periodeneinteilung von 120 Å an.

1. Im Lichtmikroskop sichtbar:
Halte - und Einschlußfasern mit einem Durchmesser von 1,1 μ , die meridional und zentralwärts in der Rinde verlaufen. Sie bilden ein Netzwerk, dessen Maschengröße 45 μ beträgt.
2. An der Grenze zwischen Licht - und Ultramikroskop:
Fibrillentyp wie er von Baurmann und Thiessen sowie Schwarz und Schuchardt beschrieben wurde.
 $\varnothing$ 100 - 160 m μ , Interfibrillarabstand 3 μ ,
Periode im metallbedampften Präparat 500 Å.

Diese Fasern spannen in den Maschen des ersteren ein weiteres zufällig angeordnetes Netzwerk auf. Sie wurden von Baurmann, Heesch und Strömberg (1926) als die Ultrastruktur des Glaskörpers aufgefaßt und seine gallertige Konsistenz auf ihr Vorhandensein zurückgeführt.

Nach Schwarz gehört dieses Fasersystem in die grobdipere Phase (Teilchen $> 100 \text{ m}\mu$). Faserabstand und - dicke sind damit nicht geeignet die gallertige Eigenschaft des Corpus vitreum zu erklären.

3. Im Elektronenmikroskop erkennbar:

Innerhalb des Raumgitters der grobdispersen Phase wird, in dieser Veröffentlichung zum ersten Mal, ein weiteres polygonal angeordnetes Faserwerk beschrieben, welches von ihm der kolloidalen Phase (Teilchen $< 100 \text{ m}\mu$) zugerechnet wird.

$\varnothing 15 - 20 \text{ m}\mu$, Maschenweite $160 - 800 \text{ \AA}$,
Periodenbestimmung nicht möglich.

Aus morphologischen Gesichtspunkten machte Schwarz diese Fibrillen für die gelartige Beschaffenheit des Glaskörpers verantwortlich und bezeichnete sie als " Gelkörper ".

Mittels ultradünner Schnitte konnte die genaue Anordnung der Fibrillen, besonders der Rindenzone, von J. Gärtner

(1962 - 65 - 67) geklärt werden. Bei seinen Untersuchungen konnte er fibrillenproduzierende Zellen (Fibroblasten und Makrophagen) in der Cortex feststellen und dadurch die Herkunft der Glaskörperfibrillen bestimmen.

A.3. Die Hyaluronsäure im elektronenmikroskopischen Bild.

In neuester Zeit hat sich, nachdem die fibrillären Stützeinrichtungen des Corpus vitreum bis in die elektronenmikroskopische Dimension als Kollagen definiert wurden, das Interesse der Forscher der zweiten makromolekulären Komponente des Glaskörpers, der HYALURONSÄURE, zugewendet. Balazs (1969) betrachtete sie als " wichtigste Element des viskoelastischen Systems " im Glaskörper, dessen Qualitäten durch die Glaskörperfibrillen und die hochpolymeren Hyaluronsäuremoleküle bestimmt sind. Von Meyer und Palmer (1934) im Corpus vitreum des Ochsen entdeckt, gehört sie, zu den sauren Mucopolysacchariden mit den typischen Eigenschaften von Polyanionen. Die Hyaluronsäure ist ein hochpolymeres unverzweigtes Polysaccharid (Fadenmolekül), dessen kleinste Einheit ein Disaccharid ist, welches aus N - Acetylglucosamin und Glucuronsäure in 1 - 3 Bindungen zusammengesetzt ist (Weismann, Meyer 1954).

Eigenschaften:

1. Auftreten in verschiedenen Polymerisationsstufen;

2. Bildung von Fadenmolekülen;
3. hohes Wasserbindungsvermögen;
4. Polymerisation - Depolymerisation unter-
liegen fermentativer Steuerung:

Polymerisation	Polymerasen Transferasen
----------------	-----------------------------

Depolymerisation - Hyaluronidasen;

5. Viskosität

(T.C. Laurent 1970).

Wegen der Eigenschaft, große Mengen an Wasser zu binden wird die Hyaluronsäure für den gallertigen Charakter des Glaskörpers verantwortlich gemacht (Meyer und Palmer 1934) Mengenmäßig ist sie am Aufbau des Corpus vitreum mit 0,05 % beteiligt (Ochsenauge). Ihr Anteil an der organischen Substanz wird mit 33 % angegeben (Meyer und Palmer 1934 - 36). Das Molekulargewicht beträgt $7,7 \times 10^4$ - $1,7 \times 10^6$ (Laurent 1970). Chemische Analysen von Neckel (1953) ergaben, daß die Hauptmenge der Hyaluronsäure nicht am Aufbau der Fibrillen beteiligt ist. Auch die Untersuchungen von T.C. Laurent (1955) zeigten, daß im Glaskörper nicht - Eiweiß- gebundene Hyaluronsäure existiert. Bei den in der Histologie üblichen Fixierungs- und Fällungsmethoden bleibt dieser Hauptbestandteil des Corpus vitreum, die Hyaluronsäure, unsichtbar.

An gefriergetrockneten Schnitten des frischen, osmiumdampffixierten und formolfixierten Glaskörpers konnte Schwarz (1961) sowohl die Fibrillen als auch die Interfibrillarsubstanz zur Darstellung bringen. Normalerweise sind 1 - 3 μ dicke Schnitte von Geweben im Elektronenmikroskop vollkommen undurchstrahlbar. Beim Glaskörper können aber solch dicke Schnitte nach Gefriertrocknung im Elektronenmikroskop betrachtet werden, da die Trockensubstanz dann nur 1 - 2 % beträgt und damit die mehreren μ dicken Schnitte durchstrahlbar sind. Es zeigte sich in den elektronenmikroskopischen Aufnahmen, daß die Fibrillenzwischenräume mit granulären Elementen ausgefüllt waren und die Fibrillen von gleichartigen Körnern fast maskiert wurden. Diese Körner traten in mehreren Formen auf:

1. Feingranuläre Elemente $\varnothing$ 10 μ ;
 2. grobgranuläre " $\varnothing$ 20 - 40 μ
 3. große ovale " $\varnothing$ 300 - 500 μ
- (lösliche Proteine).

Schwarz vermutete, daß es sich hierbei um die Hyaluronsäure und um die löslichen Proteine (Balazs 1953) handelt, da die Fibrillen nach Hyaluronidasebehandlung deutlicher hervortraten. Die unterschiedlichen Größen wurden mit den verschiedenen Polymerisationsstufen erklärt. Eine

periodische Querstreifung (120 - 150 Å) war nur sehr vereinzelt zu erkennen. Balazs (1969) zufolge befinden sich im Glaskörper Bezirke unterschiedlicher Hyaluronsäurekonzentration. Dabei besteht ein Konzentrationsgradient von der Rinde, in der die Hyaluronsäure- und Fibrillenproduzierenden Zellen lokalisiert sind (Hyalozyten-Balazs 1964-65 bzw. Glaskörperrindenzellen - Gärtner 1967), zum postlenticulären Bereich. Gleichzeitig veröffentlicht er in dieser Arbeit ein Modell für die räumliche Anordnung der Hyaluronsäuremakromoleküle im kollagenen Netzwerk des Glaskörpers. (Bild 1)

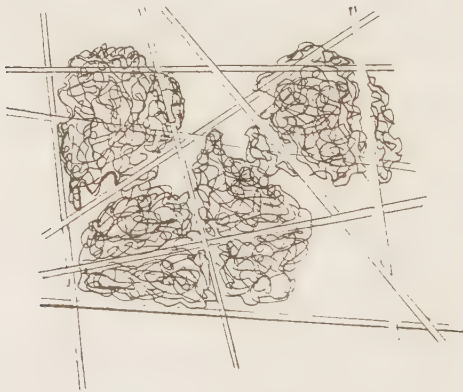


Bild 1: Das doppelte Netzwerksystem der Kollagenfibrillen und Hyaluronsäuremoleküle nach E. A. Balazs.

Nach dieser Vorstellung liegen die zu einem wirren, zufällig angeordneten Knäuel (random coil - T.C. Laurent 1970) zusammengeballten Kettenmoleküle der Hyaluronsäure (Schwämme) zwischen den Fibrillen, die ein Gerüst im Glaskörper bilden und bewirken durch ihren Expansionsdruck auf die Fibrillen eine Stabilisierung dieses Gerüsts. Des weiteren soll durch diese Interaktionen die Starrheit des " stoßdämpfenden Polsters Glaskörper " erhöht werden. 1971 gab J.H. Luft eine Färbemethode mit Ruthenium - Rot an, einem anorganischen, kristallinen, polynukleären Ionenkomplex mit einer besonderen färberischen Affinität zu den sauren Mucopolysacchariden. Unter Anwendung dieser Methode gelang es Schwarz (1976) als erstem Untersucher die Fibrillen und die Hyaluronsäure gemeinsam im angefärbten Zustand elektronenoptisch darzustellen. Seine Untersuchungen fanden am Corpus vitreum des Bullen Auges statt, da der Glaskörper bei dieser Tierspezies einen hohen Festigkeitsgrad der Gallerte aufweist. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen eine zufällige Verteilung der Gelkörperfibrillen, deren Durchmesser 15 - 20 μ m beträgt und die nur an nackten Stellen eine Querteilung aufweisen. Der Interfibrillarraum, dessen Weite 700-800 μ m erreicht, war mit angefärbten Granula, die einen Durchmesser von 8 μ m hatten, angefüllt. Diese Körner bildeten

sogar Ketten von 150 - 200 mp Länge und stellen nach der Auffassung von Schwarz die Hyaluronsäure im oligomeren Zustand dar. Die Fibrillen wurden von dicht aneinander-gelagerten Granula in Form einer Girlande bedeckt und umwunden. Der Girlandendurchmesser erreicht Werte von 150 - 900 mp. Diese Girlanden repräsentieren Hyaluronsäure im polymeren Zustand.

A. 4. Zielsetzung dieser Arbeit

In dieser Arbeit, deren Ergebnisse hier veröffentlicht werden, wird untersucht, ob die gleichen Beziehungen im Corpus vitreum der Katze vorliegen, wie sie Schwarz 1976 am Ochsenauge darstellen konnte, da auch bei dieser Tierart die Konsistenz des Glaskörpers als relativ fest zu bezeichnen ist.

B 1. Material und Methoden

Sofort nach Eintritt des Exitus wurden die Bulbi einer Katze aus der Orbita entfernt, ihre Glaskörper in toto herauspräpariert und folgender, von Luft (1971 a - b) empfohlenen Präparationstechnik mit Rutheniumrot unterzogen. In einem ersten Schnitt erfolgte die Fixierung des Corpus vitreum in einer 1,4 % igen Glutaraldehydlösung, welcher 1,500 ppm Rutheniumrot beigelegt war. Darauf folgte das Auswaschen mit einer 0,1 M Cacodylatpufferlösung, die 800 ppm Rutheniumrot enthielt. Schließlich wurde mit 2 % iger Osmiumsäure plus 400 ppm Rutheniumrot, bei einer Temperatur von 4° C, nachfixiert und dann mit 0,9 % iger Kochsalzlösung erneut gewaschen.

Nachdem der Glaskörper zur Entwässerung in eine Acetonreihe gegeben worden war und nachfolgend eine aufsteigende Aceton-Mikropalreihe durchlaufen hatte, wurde das Corpus vitreum in Mikropal, einem Kunstharzgemisch der Firma Ferak, Berlin, eingebettet. Von dem so präparierten Glaskörper wurden dann 500 Å dicke Ultradünnschnitte, zum Teil in Serie, um eine gute Durchforschung des Objektes zu ermöglichen, angefertigt. Diese Dünnschnitte wurden unter dem Siemens Elmiskop I a, bei einer Strahlspannung von 80 K V betrachtet und fotografiert. Die dabei erreichte

Primärvergrößerung beträgt 10 - 40 000 unter Verwendung einer Blendenbohrung von 200 / 50 μ . Von den hieraus resultierenden Aufnahmen wurden für die metrische Auswertung Positive von 3,5 facher Vergrößerung hergestellt.

2. Befunde

Aus morphologisch - histologischen Gesichtspunkten wird der Glaskörper in die relativ dünne Rinde (Pars corticalis) und den Zentralteil (Pars centralis) unterteilt. Die Rindenschicht wird von der Retina durch eine Basalmembran bzw. durch die vitreoretinale Grenzsicht Gärtners (1962 d) getrennt und enthält Zellen mit charakteristischen Eigenschaften von Fibroblasten und Makrophagen, mit Ausnahme des retrolentalen Bereiches.

Die vorliegenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen am Glaskörper der Katze beschränkten sich auf die Pars centralis, da der Rindenanteil und die ihn begrenzende Membran nicht dargestellt werden konnte. Dieser Zentralteil repräsentiert jedoch die Hauptmasse des Corpus vitreum und eignet sich deshalb besonders für die morphologische Beurteilung.

Das elektronenmikroskopische Bild des zentralen Teiles

des Corpus vitreum bietet in allen Regionen eine gleichmäßig verstreute Anordnung der Fibrillen (random), d.h. sie sind hier in einer statistischen Verteilung anzutreffen. Sie erstrecken sich in alle Richtungen des Raumes, so daß sie zum Teil quer, längs oder diagonal geschnitten wurden. (Abb. 1 u. 4) Der Durchmesser der nackten Fibrillen schwankt zwischen 150 - 200 Å. Eine periodische Strukturierung dieser Fibrillen und eine Verzweigung derselben ließ sich nicht feststellen. (Abb. 2) Mitunter werden auch Fibrillen gefunden, die lose in Bündeln zusammenliegen. Die Oberfläche dieser Fibrillen ist mit Rutheniumrot angefärbten oval bis runden Granula dicht bedeckt, so daß sie fast vollständig von ihnen maskiert werden. Die Granula auf den Fibrillen erreichen einen Durchmesser von 70 - 100 Å. Die Fibrillen werden jedoch nicht von einer gleichmäßigen dicken Schicht Granula überzogen, sondern es kommt zu einer alternierenden Anhäufung von Körnern zu kugelartigen Gebilden, die den Fibrillen aufsitzen bzw. die Granula bilden Girlanden, die sich um die Fibrillen winden. Ihre Dicke reicht von 700 - 1000 Å. Die Abstände zwischen diesen Gebilden betragen entweder 300 - 700 Å oder die Granulaanhäufungen gehen fließend ineinander über. An den nicht bedeckten Stellen ist der Fibrillendurchmesser gut zu bestimmen. An manchen Stellen kommt es zum

Zusammenfließen der Girlanden benachbarter Fibrillen.

(Abb. 3)

Für die Interfibrillarraumweite konnten Werte zwischen 3700 - 4800 Å gefunden werden. Diese Räume sind jedoch nicht optisch leer, sondern ebenfalls mit Rutheniumrot färbbaren Granula angefüllt, die nahezu die gleichen Durchmesser besitzen wie die Körner an den Fibrillen. Diese Körner können sich zu Ketten, die eine Länge von durchschnittlich 4500 Å und einen Durchmesser von 50 - 70 Å haben, aneinanderreihen, die sich zum Teil zwischen den Fibrillen aufspannen oder aus den Girlanden herausragen.

(Abb. 2 und 3)

Abb. 1:

Pars centralis des Corpus vitreum vom Katzenauge.

Fibrillen mit hochpolymerer Hyaluronsäure.

Rutheniumrot.

Vergr.: 14000 : 1



Abb. 2:

Pars centralis des Corpus vitreum vom Katzenauge.
Nackte Fibrillen und zu Ketten aneinandergereihte
Hyaluronsäuregranula.

Rutheniumrot.

Vergr.: 70. 000 : 1



Abb. 3:

Pars centralis des Corpus vitreum vom Katzenauge.

Fibrillen der Kollagenklasse; Zusammenfließen benachbarter

Hyaluronsäuregirlanden.

Rutheniumrot.

Vergr.: 70 000 : 1

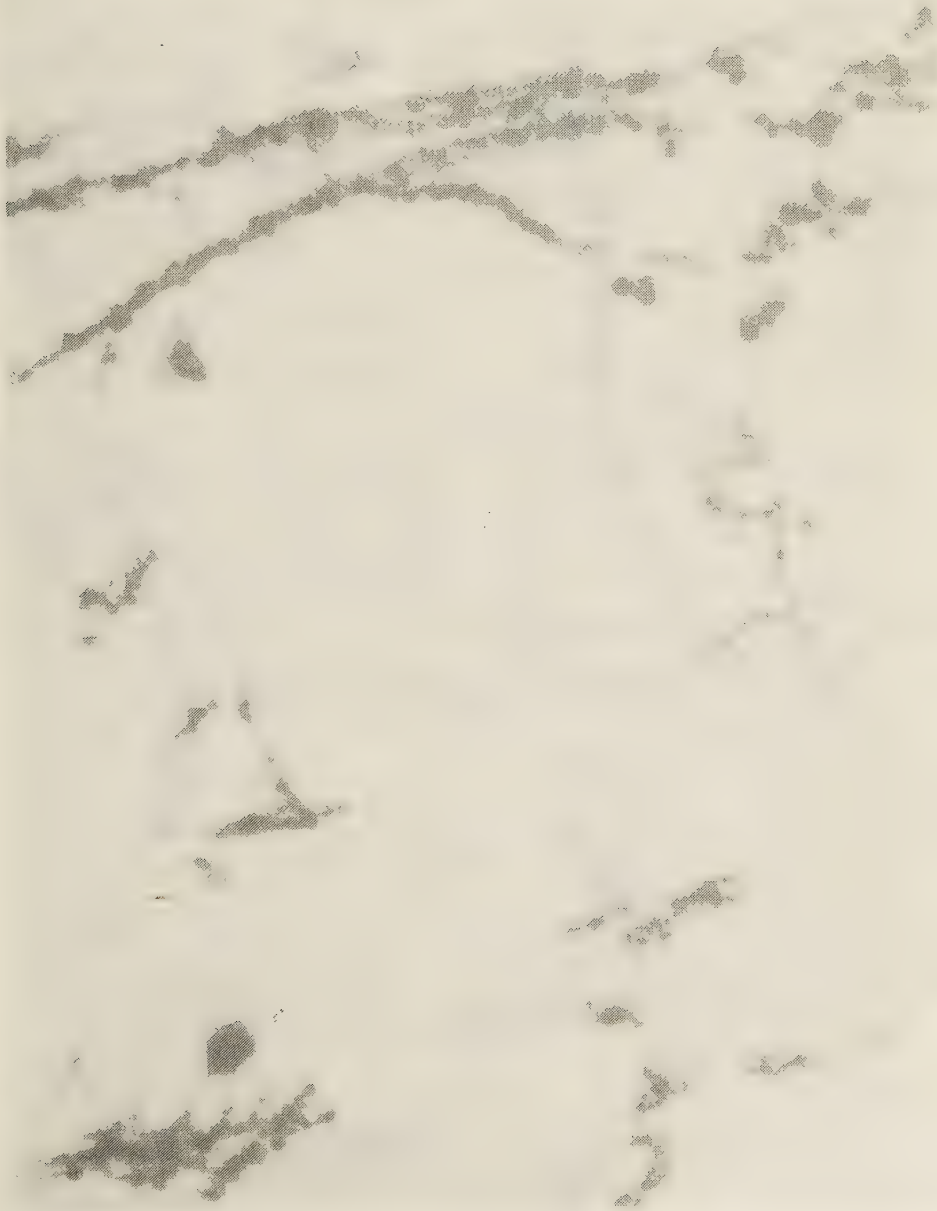
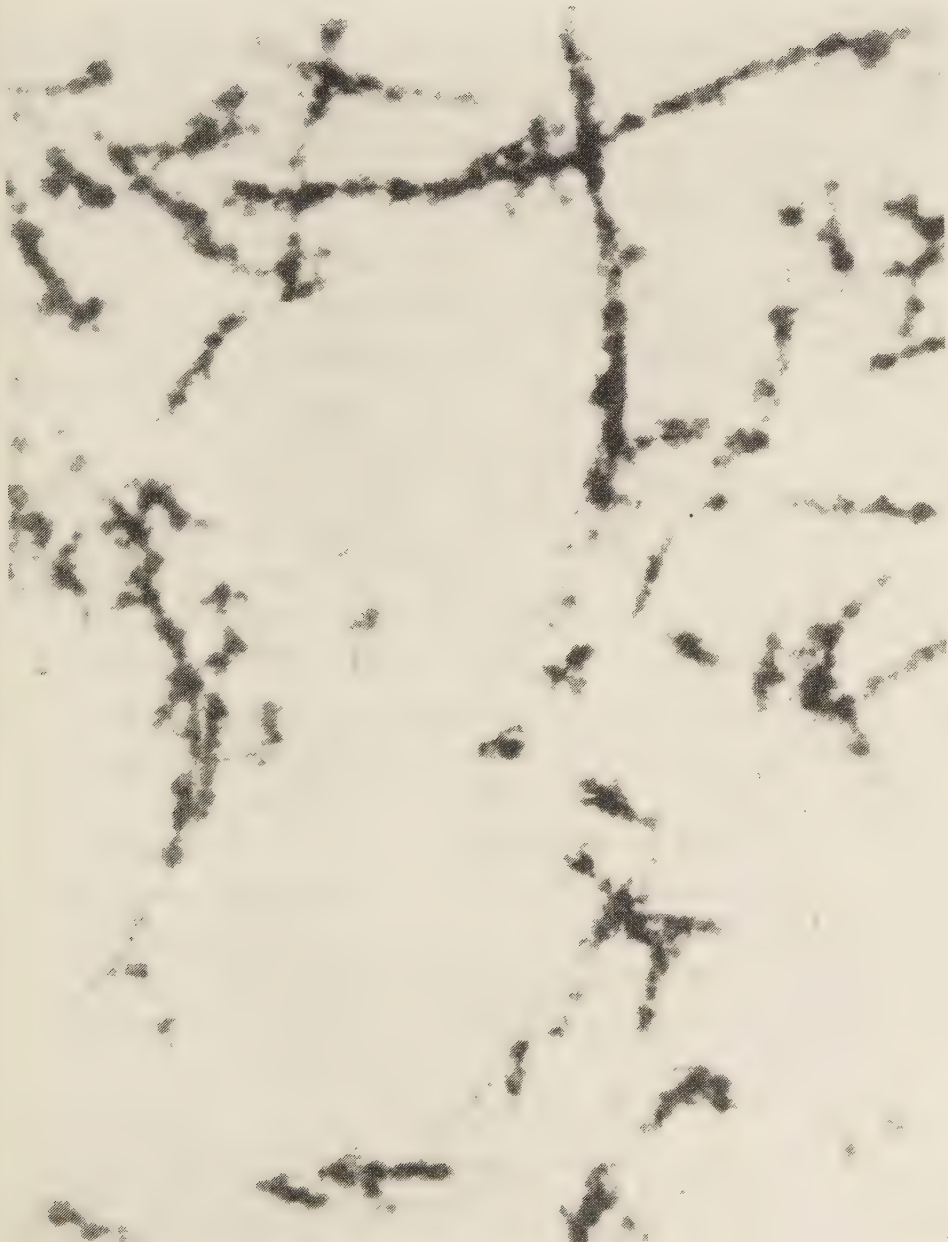


Abb. 4:

Fibrillen und Hyaluronsäure in verschiedenen
Polymerisationsstufen.

Rutheniumrot.

Vergr.: 70 000 : 1



C Diskussion

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen von den Präparaten des mit Osmiumsäure und Ruthenium - Rot fixierten Glaskörpers der Katze zeigen, daß das Corpus vitreum in der Hauptsache aus folgenden zwei Komponenten besteht:

1. Fibrillen der Kollagen - Klasse, deren Durchmesser 150 - 200 Å beträgt;
2. Hyaluronsäure in drei verschiedenen Polymerisationsformen.

Die Darstellung der Fibrillen in diesen Schnitten ist auf die Anfärbbarkeit mit Osmiumsäure zurückzuführen, während die Hyaluronsäure im Corpus vitreum hier durch Ruthenium - Rot " spezifisch " gefärbt wird, da als Vertreter der Glukosaminoglykane im Glaskörper fast nur die Hyaluronsäure nachgewiesen werden konnte. Dieser Tatbestand ergab sich aus Untersuchungen von Meyer et al. (1938). Sie konnten feststellen, daß fast der gesamte Gehalt an Hexosamin im Glaskörper in Form von Hyaluronsäure vorliegt. Die Einschränkung der elektronenmikroskopischen Untersuchungen auf den Hauptanteil des Glaskörpers, die Pars centralis, hat ihre Ursache in einer sehr hohen Adhäsion

zwischen den Müllerschen Zellen der Retina und der Basallamelle bzw. der Glaskörperrinde, so daß es bei der mechanischen Präparation des Corpus vitreum von der Netzhaut regelmäßig zur Trennung innerhalb der Cortex kommt. Dadurch wird eine Darstellung dieses Teilbereiches, d.h. der Pars corticalis mit den Glaskörperrindenzellen häufig nicht möglich.

Die Hyaluronsäure erscheint im elektronenoptischen Bild in zwei Zustandsformen, die durch einen unterschiedlichen Polymerisationsgrad gekennzeichnet sind:

- a) Im Interfibrillarraum liegen mit Ruthenium - Rot angefärbte, oval bis runde und isoliert auftretende Granula, die von Schwarz (1976) als " Oligomer " der Hyaluronsäure bezeichnet wurden. Diese Granula stellen Makromoleküle in Kettenform dar.
- b) Zusammenballungen von oligomerer Hyaluronsäure:
 - I) In Kettenform von ca. 4500 Å Länge;
 - II) dicht gepackt an der Fibrilloberfläche gelagert.Diese Form wird von Schwarz (1976) als das Hochpolymer der Hyaluronsäure charakterisiert.

Das mit dem Elektronenmikroskop nicht visuelle Monomer der Nomenklatur nach Schwarz, ist ein Oligosaccharid von geringem Molekulargewicht, welches im Golgi - Apparat der Hyalozyten synthetisiert und in den Golgi - Vesikeln zum Extrazellularraum transportiert wird. Der weitere Prozeß zu hochmolekularer Hyaluronsäure (Oligomer und Polymer) vollzieht sich in der extrazellulären Matrix mittels Transferasen / Polymerasen (Österlin - Jakobson 1968) durch weitere Additionen von Nukleotidzuckern. Makroskopisch ist der Glaskörper durch zwei ihm eigene Merkmale, eine vollkommene Transparenz sowie eine artspezifische Viskoelastizität, gekennzeichnet. Die wasserklare Durchsichtigkeit des Corpus vitreum könnte durch die elektronenoptisch sichtbaren Kollagenfibrillen gestört bzw. vernichtet werden, wenn diese Fibrillen die Dicke von kollagenen Fibrillen hätten, wie sie in den Sehnen oder Organen vorkommen. Doch dies ist nicht der Fall. Die Dicke beträgt nur 15 - 20 Å. Damit erreicht sie nur $1/20$ bis $1/40$ der Wellenlänge des sichtbaren Lichtes. Auch die Cornea ist vollkommen durchsichtig. Die Fibrillendicke beträgt auch hier nur die halbe Wellenlänge des Lichtes. Beim Leukom (Hornhautnarbe) werden viel dickere Kollagenfibrillen produziert und damit ist die Hornhaut an dieser Stelle nicht mehr glasklar durchsichtig (W. Schwarz). Vorteilhaft wirkt sich neben

der geringen Dimension der Fibrillen auch die räumliche Anordnung der hochpolymeren Hyaluronsäure an der Fibrillenoberfläche auf die Transparenz aus. Weiterhin bietet der Interfibrillarraum, dessen Ausdehnung 3700 - 4800 Å beträgt, den Lichtwellen kein Hindernis. Dieser Raum ist mit dem Oligomer der Hyaluronsäure ausgefüllt. Dieses Glykosaminoglykan zeichnet sich aber durch ein enormes Wasserbindungsvermögen aus, so daß als Folge dieser Funktion der hohe Gehalt an Wasser im Corpus vitreum (98 %), d.h. im Raum zwischen den Fibrillen, erklärbar ist. Die Hyaluronsäure ist also ein wichtiger Garant für die hervorragende Durchsichtigkeit des Glaskörpers. Schon 1956 konnte Schwarz an gefriergetrockneten Schnitten eine granuläre Substanz an der Oberfläche der Fibrillen nachweisen und vermutete, daß es sich hierbei um die Hyaluronsäure bzw. die löslichen Eiweißkörper handelt. Mit der Präparation des Glaskörpers nach der von Luft (1971) empfohlenen Methode gelang ihm 1976 der Nachweis, daß die hochpolymere Hyaluronsäure nur um die Fibrillen angeordnet ist. Bislang galt die Theorie, die von Balazs (1969) vertreten wurde, daß das Hyaluronsäurekettenmolekül sich ausschließlich im Interfibrillarraum in Form eines " Schwammes " befindet. Durch das hohe Wasserbindungsvermögen saugt sich der " Schwamm " mit Wasser voll und übt dadurch einen allseitigen Druck auf das

fibrilläre Netzwerk aus, womit die stabilisierende Wirkung auf das Maschenwerk und damit die Festigkeit der Gallerte erklärt wurde.

Auch die vorliegenden Untersuchungen am Glaskörper der Katze bestätigten die Befunde von Schwarz. Die hochpolymeren Hyaluronsäuremoleküle umwinden in Form einer Girlande die Fibrillen und erzeugen durch diese Anordnung und durch den Druck, der auf dem hohen Wasserbindungsvermögen beruht, die Steifigkeit der Fibrillen. Die Stabilität wird weiter verstärkt durch eine Vernetzung dieser zu Girlanden angeordneten Hyaluronsäure. Es konnte beobachtet werden, daß Girlanden benachbarter Fibrillen ineinander übergehen. Die unverzweigt im Glaskörper der Katze vorzufindenden Fibrillen werden auf diese Art indirekt miteinander verbunden. (Bild 2)

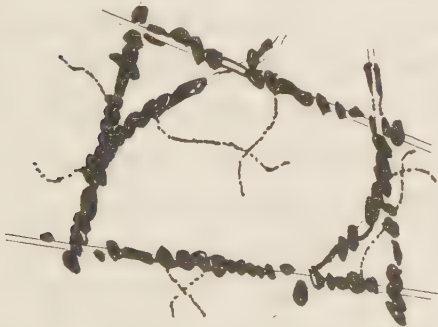


Bild 2: Netzwerk der Kollagenfibrillen und Anordnung der hochpolymeren Hyaluronsäure.

Auf Grund dieser Befunde gibt das Modell von Balazs nur eine Teilerklärung für die Festigkeit des Glaskörpergels. Die Hyaluronsäure ist in dreifacher Weise verantwortlich für die gallertige Beschaffenheit des Corpus vitreum:

- 1.) Allseitiger Druck auf die Fibrillen durch die oligomere Molekülform der Hyaluronsäure im Interfibrillarraum;
- 2.) Versteifung der Fibrillen durch den Druck der Girlanden;
- 3.) Vernetzung des Fibrillengerüstes durch das Zusammenfließen benachbarter Girlanden.

Einen Beweis dafür, daß der hochpolymeren Hyaluronsäure die Hauptbedeutung für die Konsistenz des Corpus vitreum zukommt, lieferten Experimente mit Hyaluronidase, einem Enzym, welches die Hyaluronsäure abbaut. Läßt man dieses Ferment auf den Glaskörper einwirken, so geht dieser vom festen in den flüssigen Aggregatzustand über.

Das zweite Merkmal des Glaskörpers ist seine Viskoelastizität, die durch die beiden makromolekulären Hauptkomponenten - Fibrillen und Hyaluronsäure - hervorgerufen wird. Auf Grund dieser Beschaffenheit ist das Corpus vitreum in der Lage auch die Funktionen eines " Stoßdämpfers " zu übernehmen. Balazs (1969) führte dieses Konzept als erster in die Diskussion ein.

Da sowohl die Retina als auch die Linse möglichst vibrationsfrei arbeiten müssen, hätten Druckverlagerungen, wie sie beim Gehen, Springen oder schnellen Augenbewegungen auftreten, einen schädigenden Einfluß auf diese sehr stoßempfindlichen biologischen Strukturen. Die spezifische Anatomie des Glaskörpers verhindert jedoch weitgehend Läsionen an Retina und Linse, wie sie durch starke Bewegungen verursacht werden könnten. Der Festigkeitsgrad des Glaskörpergels ist bei den einzelnen Tierspezies sehr verschieden. Ursache für diese Konsistenzunterschiede ist die Größe des interfibrillären Raumes. Weiterhin ist auch die Menge der hochpolymeren Hyaluronsäure dafür maßgebend. Ein sehr hoher Polymerisationsgrad wird auch durch das Zusammenfließen der Hyaluronsäuregirlanden erreicht.

Die vorliegende Arbeit konnte keine Klärung über die Verbindung der Hyaluronsäure mit der Fibrillenoberfläche erbringen, da eine Periode in den Fibrillen schwer festzustellen war. Deshalb konnte auch nicht herausgefunden werden, ob die Haftung im H - oder D - Teil besteht. Der Glaskörper ist kein Gel im Sinne der Kolloidchemie, sondern durch seine verschiedenen Komponenten ein " biologisches Gel ".

D. Zusammenfassung

Der Zentralteil des Glaskörpers vom Katzenauge wurde nach der von Luft (1971) angegebenen Methode fixiert und elektronenmikroskopisch untersucht.

Die elektronenoptischen Aufnahmen dieses Teilbereiches des Corpus vitreum sind beherrscht von den in allen Regionen gleichmäßig verteilten Fibrillen und der in unterschiedlichen Polymerisationsstufen vorliegenden Hyaluronsäure. Der Fibrillendurchmesser beträgt 150 - 200 Å. Der Interfibrillarraum, für dessen Weite 3700 - 4800 Å ermittelt werden konnte, enthält Hyaluronsäuregranula von 50 - 70 Å Durchmesser. Diese Granula reihen sich bisweilen zu Ketten von 4500 Å aneinander (oligomere Zustandsform der Hyaluronsäure nach Schwarz). Die Fibrillenoberfläche ist mit 70 - 100 Å dicken Granula bedeckt. Diese Körner bilden Girlanden, die sich um die Fibrillen bilden (hochpolymere Zustandsform der Hyaluronsäure nach Schwarz). Die Girlanden benachbarter Fibrillen verbinden sich häufig. Die Befunde wurden unter den Gesichtspunkten der optischen Aufgaben sowie der Viskoelastizität des Glaskörpers diskutiert.

E. Literaturverzeichnis

- Baurmann, M.: Untersuchungen über die Struktur des Glaskörpers bei Säugetieren. Graefes Arch. 111 (1923)
- Baurmann, M. und Thiessen, A.: Die Struktur im Glaskörper des Auges. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math. - physik Kl. 1922, 125.
- Balazs, E. A.: Molecular morphology of the vitreous body. In: The structure of the eye G. K. Smelser, ed. S. 293 - 310, New York: Academic Press 1961
- Balazs, E. A.: Die Mikrostruktur und Chemie des Glaskörpers. In: Deutsche Ophthal. Gesellsch. Bericht über die 68 Zusammenkunft (1969)
- Balazs, E. A., Laurent, T.C.: Studies on the structure of the vitreous body. Archives of Biochemistry and Biophysics 81, 464 - 479 (1959)
- Blackstad, F.W., Megge, F.: On the ultrastructure of vitreous body filaments. Acta ophthal. (Kbh.) 39, 37 - 53(1961)
- Duke-Elder, W.S.: The structure and properties of the vitreous body. Tran. Ophthalm. Soc. U. Kingd. 49(1929)
- Eisler, P.: Anatomie des menschlichen Auges. In: Handbuch der Ophthalmologie Bd.I, Verlag J. Springer 1930
- Gärtner, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Feinstruktur der normalen und pathologisch veränderten vitreoretinalen Grenzschicht. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. 165, 71 - 102 (1962)

- Gärtner, J.: Die Feinstruktur der Glaskörperrinde des menschlichen Auges an der Ora serrata im Alter. Albrecht v. Graefes Arch. klin. Ophthal. 168, 529 - 562 (1965)
- Gärtner, J.: Beziehungen zwischen Fundusdiagnostik und Elektronenmikroskopie, dargestellt am Beispiel der Glaskörperrinde in der Ora-serrata-Gegend. Mod. Probl. Ophthal., Vol. 5, 154 - 169. Basel - New York: Karger 1967
- Grignolo, A.: Les connaissances actuelles sur la structure du corps vitre. Progr. d'ophthal. 2, 1 - 35 (1953)
- Gross, J., Matoltsy, A.G., Cohen, C.: Vitrosin: A member of the collagen class. J. biophys. biochem. Cytol. 1, 215 - 220 (1950)
- Lauber, H.: Der Glaskörper (Corpus vitreum). In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie III/ 2, Berlin 1936
- Laurent, T.C.: Studies on hyaluronic acid in the vitreous body. J. biol. Chem. 215, 263 - 271 (1955)
- Laurent, T. C.: In: Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix (e.A. Balazs, ed.) Vol. 2, 703 - 731. London and New York: Academic Press 1970
- Luft, J. H.: Electron microscopy of cell extraneous coats as revealed by ruthenium red staining. The Journal of Cell Biology, 1964, Vol. 23, number 2, pages 54A - 55A.
- Luft, J. H.: Ruthenium-red and violet. I. Chemistry purification, methods of use for electron microscopy and mechanism of action. Anat. Rec. 171, 347 - 368 (1971)

- Luft, J. H.: Ruthenium-red and violet. II. Fine structural localisation in animal tissues. *Anat. Rec.* 171, 369 - 391 (1971)
- Matoltzky, A. G., Gross, J., Grignolo, A.: A study of the fibrous components of the vitreous body with the electron microscope. *Soc. exp. Biol.* 76, 857 (1951)
- Meyer, K., Palmer, J. W.: The polysaccharide of vitreous humor. *J. biol. Chem.* 107, 689 - 638 (1934)
- Neckel, J.: Chemische Untersuchungen über die elektronenmikroskopisch sichtbaren Glaskörperfibrillen. *Z. Naturforsch.* 8b, 236 - 243 (1953)
- Österlin, S. E., Jacobson, B.: The synthesis of hyaluronic acid in vitreous. I. Soluble and particulate transferases in hyalocytes. II. The presence of soluble transferase and nucleotide sugar in the acellular vitreous gel. III. In vivo metabolism in the owl monkey. *Exp. Eye Res.* 7, 497 - 533 (1968)
- Pirie, A., Schmidt, G., Waters, W.: Ox vitreous humor. I. The residual protein. *Brit. J. Ophthalm.* 32, 321 - 339 (1948)
- Schuchardt, E., Knoch, M.: Elektronenmikroskopische Befunde am Glaskörper des Auges. *Naturwissenschaften* 37, 426 (1950)
- Schwarz, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Glaskörperschnitten. *Anat. Anzeiger Bd.* 102, Heft 22 24, 1956

- Schwarz, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Glaskörperstrukturen im Rinderauge. Z. Zellforsch. 36, 45 - 61 (1951)
- Schwarz, W.: Die Gelkörperfibrillen des menschlichen Glaskörpers. Z. Zellforsch. 36, 284 - 292 (1951)
- Schwarz, W.: Electron microscopic observations of the human vitreous body. In: The structure of the eye (G.K. Smelser, ed.) 283 - 291 . New York: Academic Press 1961
- Schwarz, W.: Electron microscopic study on the gel of the central part of the corpus vitreum in the ox. Cell Tiss. Res. 168, 271 - 275 (1976)
- Schwarz, W., Ruska, H.: Über die Faserstrukturen im Glaskörper und in der Linse des Säugetierauges. Optik 7, 318 (1950)
- Weismann, B., Meyer, K.: J. Am. chem. Soc. 76, 1753 (1954)
- Wolpers, C.: Kollagenquerstreifung und Grundsubstanz. Klin. Wschr. 22, 624 - 625 (1943)

Herrn Professor Dr. med. W. Schwarz möchte ich für die Überlassung dieses Themas sowie für die vielfältige und freundliche Unterstützung, während der Durchführung dieser Dissertation, meine Hochachtung und meinen besonderen Dank aussprechen.

LEBENS LAUF

Am 7. August 1946 wurde ich als dritter Sohn des Zahnarztes Ernst Kurschel und seiner Ehefrau Elfriede Kurschel in Dähre Krs. Salzwedel geboren.

Nach der Mittleren Reife absolvierte ich die Lehre im Zahntechnikerhandwerk und machte anschließend das Abitur am Westfalen-Kolleg in Bielefeld.

1973 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität in Berlin. Nachdem ich die naturwissenschaftliche und zahnärztliche Vorprüfung abgelegt hatte, bestand ich hier das Staatsexamen.

Seit den 1. September 1978 arbeite ich als Assistent in der Praxis von Herrn Dr. G. Schwill.

Winfried Kurschel

